Rispettoso omaggio dell'Aut.

Dott. CARLO CENI

Direttore dei Laboratorj scientifici dell' Istituto Psichiatrico di Reggio Emilia

SULLA REAZIONE FENOLICA

IN RAPPORTO

COI TOSSICI PELLAGROGENI



UDINE

TIPOGRAFIA D. DEL BIANCO

1906

Dott. CARLO CENI

Direttore dei Laboratorj scientifici dell' Istituto Psichiatrico di Reggio Emilia

SULLA REAZIONE FENOLICA

IN RAPPORTO

COI TOSSICI PELLAGROGENI



UDINE

TIPOGRAFIA D. DEL BIANCO

1906

Estratto dalla *Rivista Pellagrologica Italiana*



In un numero recente di questa « Rivista » il Gosio (1), dopo aver esposto a un di presso il concetto del Di Pietro sulla natura glucosidica dei tossici pellagrogeni e ch'egli pure oggi tenderebbe ad ammettere, accettando ormai il concetto nostro e del Di Pietro che essi sono degli elementi costitutivi del parassita e non già dei prodotti di trasformazione del substrato nutritivo, com' egli prima credeva, porta la discussione sul valore che ora si può attribuire ai noti *fenoli* sia nella formazione dei tossici stessi, sia come dato diagnostico di sostanze alimentari infette.

Il Di Pietro (2) negando a questi fenoli qualsiasi valore nella costituzione del tossico pellagrogeno, li considera come un carattere differenziale della varietà tossica di *Penicillum Glaucum* da lui studiata. Egli sarebbe poi arrivato anche all' isolamento e alla separazione dei due principii, cioè, del tossico e dell' acido aromatico che reagisce al cloruro ferrico. Il Gosio invece, limitando alquanto

---

(1) *La reazione fenolica del granoturco in rapporto coi parassiti vegetali*. Questa Rivista. Anno VI, N. 1. 1906.

(2) *Studio morfologico e biologico sul Penicillum Glaucum*. Teramo. Tipografia Centrale 1904.

il valore da lui prima dato ai composti fenolici nella etiologia della pellagra, vorrebbe ora dar loro il significato *di un indice esplicativo del meccanismo di tossicità.* Secondo lui questi composti fenolici servirebbero a fissare i principii tossici specifici che sono elaborati entro il parassita stesso; di modo che gli uni sarebbero intimamente legati agli altri.

Ed è in base a questo concetto che ripugnando al Gosio di ammettere l'esistenza dei principii tossici senza la presenza dei fenoli, si scaglia contro di me e contro il mio collaboratore Dr. Besta, incolpandoci di incompetenza e d'altro perchè negli estratti alcoolici delle varie specie di Aspergilli da noi fin qui studiate non abbiamo mai potuto constatare alcun rapporto tra i principii tossici e i suddetti composti fenolici che reagiscono al cloruro di ferro.

Egli ci rimprovera acerbamente perchè in questi casi negativi ci siamo limitati alla classica reazione da lui proposta e non abbiamo esperiti tutti quei metodi di ricerche scientifiche, com'egli chiama, « rigorose e di primo ordine », che sarebbero necessarie per accertarsi se esistano o no degli altri composti fenolici che non reagiscano al cloruro di ferro.

E in realtà, per quanto sia ammissibile l'attuale ipotesi del Gosio, che oltre ai suoi composti fenolici ne possano esistere altri ancora che non reagiscono al cloruro di ferro, ma che pure abbiano la proprietà di fissare i tossici specifici, ci meraviglia anzitutto com'egli stesso, colla competenza che si arroga in materia, non abbia ritenuto opportuno approfondire di persona l'argomento e lo pretenda invece da altri ch'egli poi dichiara incompetenti.

In secondo luogo le sue invettive ci sembrano tutt'altro che giustificate; perchè nelle nostre pubblicazioni, accennando ai suddetti composti fenolici abbiamo sempre voluto limitarci a quelli messi in evidenza da lui; come hanno fatto del resto finora tutti quelli che si occuparono di questa questione. Basti ricordare la nostra prima pubblicazione sui Penicilli col dott. Besta, nella quale perfino nelle conclusioni generali abbiamo creduto opportuno di far rilevare questo nostro intento, e dove si legge ripetutamente «i principii tossici non hanno rapporto coi composti fenolici del Gosio», per convincersi come il Gosio ha forse mal interpretato i nostri giudizi ch' egli chiama *gratuiti*.

Se poi in seguito non si è voluto sempre specificare che noi intendevamo riferirci ai fenoli del Gosio, fu solo perchè ormai lo si credeva inutile, essendo convinti che per tutti i pellagrologi il nome di *composti fenolici* valesse a indicare quelli del Gosio, come i soli fin qui dimostrati. Noi eravamo d'altronde sicuri che nessuno avrebbe voluto intravedere in queste parole una ben che lontana allusione a principii chimici che per ora rimangono solo nel campo delle nuove ipotesi del Gosio stesso.

Le discrepanze che esistono tra i nostri reperti e quelli del Gosio sui composti fenolici in rapporto coi tossici pellegrogeni riguardano infatti esperienze eseguite col medesimo metodo di tecnica e spesso anche sulla medesima specie di parassiti; per cui invece di suscitare polemiche in questo caso troviamo che nell' interesse della scienza e pel bene dell' umanità, si dovrebbe indagare dove risiede la causa dell'eventuale errore che farebbe giungere, seguendo uno stesso metodo, a risultati diversi ed opposti.

Il Gosio in opposizione ai nostri risultati negativi sugli Aspergilli, e in modo speciale sull'*Aspergillus Varians* e sul ***Flavescens***, dichiara che nelle sue mani queste due specie di ifomiceti danno invece la tipica reazione al cloruro di ferro.

A proposito dell'*Aspergillus Varians* mi limito solo a far osservare che la specie da me descritta e su cui io sperimento ormai da circa due anni sempre cogli stessi risultati negativi, non si deve confondere coll' Asp. *Varians Wehmer*, come invece il Gosio nella sua nota cerca di far credere e sulla quale egli pare abbia sperimentato (1).

Ho ripetuto le esperienze anche sulla specie di Asp. *Varians Wehmer* e ch' io debbo alla cortesia del dott. Tiraboschi, collaboratore del Gosio; ma finora debbo pure confessare che anche questo non mi diede mai tracce di reazione al cloruro di ferro. È però qui mio dovere far conoscere a tale proposito che il dott. Tiraboschi inviandomi l'Asp. *Varians Wehmer* mi avvertiva che il germe speditomi non era quello da lui descritto (2) e che nelle mani del Gosio aveva dato la reazione tipica al cloruro di ferro. Questo per uno scambio d'etichette, com'egli scrivevami, era stato disgraziatamente smarrito, e quello inviatomi, per quanto analogo, presentava alcuni caratteri colturali diversi del primo.

Anche i risultati di queste ricerche di controllo

---

(1) Che il mio *Aspergillus Varians* costituisca una specie nuova e assai diversa dall'Asp. *Varians Wehmer* fu provato anche recentemente dal dott. Tiraboschi, assistente ai Laboratorj della Sanità Pubblica in Roma, come risulta da due sue pregiate lettere in data del 12-2-06 e dell' 8-3-06.

(2) *Sopra alcuni ifomiceti del mais guasto ecc.* « Annali di Botanica ». Vol. II. Fasc. I.

sull'Asp. *Varians Wehmer* non possono avere perciò che un valore molto relativo, potendosi trattare di specie o varietà diverse del germe. Il Gosio che invece ha la fortuna di aver a sua disposizione il germe genuino da me descritto, potrà eseguire delle vere ricerche di controllo, e io faccio fin d'ora affidamento sulla sua serietà perchè possa convincersi che i nostri giudizii sono esclusivamente fondati sulla realtà dei fatti.

Inesplicabili sono invece, per ora almeno, i risultati diversi ed opposti ottenuti da me e dal Gosio sull'*Aspergillus Flavescens*, che nelle mani mie e del dott. Besta non diede mai, nel periodo di oltre tre anni, la minima traccia di reazione al cloruro di ferro anche sperimentando su quantità notevolissima di materiale (1); mentre in quelle del Gosio avrebbe pure dato « in grande copia composti tipici nel modo di reagire col cloruro ferrico ecc. ».

Dico inesplicabile, perchè in questo caso i risultati diversi ed opposti furono ottenuti sperimentando sopra la medesima specie di ifomiceto, come potei di recente convincermi dietro opportuni raffronti tra il germe che servì per le mie ricerche e quello che servì al Gosio e ch'io debbo pure alla cortesia del dott. Tiraboschi.

Ho ripetuto del resto nell'aprile scorso le ri-

---

(1) Intendo qui riferirmi all'*Aspergillus Flavescens* che io ho studiato prima da solo (Gli Aspergilli nell'etiologia della pellagra ecc. « Riv. sper. di Freniatria » 1901) e poi col Besta (Veleni degli Aspergilli *Fumigatus* e *Flavescens* ecc. Id. 1902) e che il Tiraboschi nella sua memoria sopra citata si crede autorizzato di ammettere che fu da me confuso coll'*Aspergillus Glaucus*, pel fatto che da lui non fu rinvenuto in alcuni campioni di farina di maîs proveniente da luoghi pellagrosi.

cerche dei fenoli anche sull'Asp. ***Flavescens*** proveniente dal Laboratorio del Gosio stesso, ma i risultati furono sempre negativi.

Ciò premesso, voglio ora in breve riassumere i fatti più importanti emersi dalle mie ricerche sulla classica reazione fenolica nel ***Penicillum Glaucum***; i quali se non potranno spiegare tutte le controversie intorno a questo argomento, varranno però certo sempre più a dimostrare come il rapporto tra i composti fenolici del Gosio e i principii tossici pellagrogeni sia tutt'altro che costante anche in questa specie di ifomiceti, che sembra oggi costituire oggetto di studio prediletto degli sperimentatori.

Mi riferisco a ricerche eseguite sopra 61 campioni di Penicilli verdi, molti dei quali, come già dissi anche altrove, corrispondono a varietà botaniche ben definite. Le ricerche dei fenoli classici furono fatte sempre comparativamente a quelle del potere tossico dei parassiti e ripetute metodicamente nelle varie stagioni di oltre due anni consecutivi. Siccome però sulle proprietà tossiche ebbi già a dire abbastanza per esteso in una nota recente (1); così qui mi accontento di accennare solo a questa parte facendo di essa risaltare i punti più importanti e che hanno rapporto diretto coi risultati della reazione al cloruro di ferro.

Anzi tutto debbo far notare che nel mio lungo periodo di osservazione sui Penicilli ai quali mi riferisco (dal Gennaio 1904 all'Aprile 1906), mentre tutti questi ora in un'epoca, ora nell'altra presentarono delle fasi più o meno lunghe di at-

---

(1) *Sul ciclo biologico dei Penicilli verdi in rapporto con l'endemia pellagrosa.* « Riv. sper. di Freniatria. » Fasc. I-II, 1906.

tività tossica; di modo che noi siamo ora obbligati a ritenere assai probabilmente, come già dissi nella suddetta pubblicazione, patogene tutte le diverse varietà di questa specie di ifomiceti; solo una parte di essi invece apparve dotata della proprietà di reagire al cloruro di ferro.

Di questi 61 campioni patogeni, solo 37 presentarono infatti, nei varj periodi di osservazione, la proprietà di dare la classica reazione fenolica; mentre gli altri 24 campioni pure patogeni, ripeto, in nessuna epoca di osservazione reagirono al cloruro di ferro, per quanto la ricerca venisse sempre eseguita sopra una quantità considerevole di materiale. Da ciò appare quindi fin d' ora incontestabile che la classica reazione fenolica non può essere considerata nè come un carattere differenziale di varietà tossiche di Penicilli verdi, secondo il concetto del Di Pietro, nè tanto meno può essere considerata come indice esplicativo del meccanismo del potere tossico di questi ifomiceti, secondo il nuovo concetto del Gosio.

Ecco pertanto un po' più dettagliatamente i rapporti tra il potere tossico e il potere di reagire al cloruro di ferro riscontrati in queste mie ricerche.

Premetto anzitutto che oggi, non ostante un periodo di osservazione di oltre due anni, sarebbe una pretesa troppo azzardata il voler parlare, in base ai risultati suddetti, di una vera distinzione di *Penicilli fenolici* e *Penicilli afenolici*; giacchè non farebbe meraviglia che da un periodo di osservazione più prolungato risultasse invece che tutte le varietà di questa specie di ifomiceti sono capaci di dare la suddetta reazione, nello stesso modo che oggi dobbiamo ritenere queste varietà

botaniche tutte patogene. I dati anzi che noi possediamo in proposito, ci porterebbero fin d'ora ad ammettere che con grandissima probabilità la proprietà di reagire al cloruro di ferro non costituisce altro che un carattere inerente a fasi biologiche speciali di questi ifomiceti, più o meno indipendenti dalle fasi di attività tossica da noi descritte. Ciò sembrami poter dedurre dal fatto che mentre alcuni dei Penicilli della nostra collezione hanno presentato la proprietà di reagire al cloruro ferrico in grado più o meno intenso in tutto il periodo di osservazione; altri invece hanno presentato queste proprietà in modo intermittente e soltanto in epoche ben determinate, intercalate da fasi più o meno lunghe di completa inattività. Così si ebbero ad osservare ancora dei Penicilli che avendo dato la reazione fenolica fin dal primo momento in cui furono isolati, perdettero poi in seguito completamente questa proprietà dopo un periodo più o meno lungo di 6-14 mesi e più, pur conservando molte volte inalterata la proprietà tossica; mentre si ebbero a osservare altri Penicilli che dopo un lungo periodo di un anno e più di assenza completa dei suddetti fenoli, entrarono in seguito in una seconda fase di più mesi di fila, durante la quale reagirono nel modo più tipico al cloruro di ferro.

Ad ogni modo attendo i risultati di osservazioni più prolungate e più complete, prima di pronunciarmi in modo definitivo su questa questione, prima, cioè, di concludere se realmente trattasi di fasi biologiche speciali caratterizzate dalla reazione fenolica classica, o se invece si tratta di un carattere differenziale delle diverse varietà di Penicilli.

Più che sufficienti credo che siano invece i dati

che posseggo per poter concludere sui rapporti tra la proprietà di reagire al cloruro di ferro e quella di elaborare dei tossici specifici. Già ho accennato più sopra come pei Penicilli che durante il periodo di osservazione presentarono a intermittenza la proprietà di reagire al cloruro di ferro, tale rapporto sia apparso tutt'altro che costante: Penicilli che nella fase fenolica erano apparsi tossici, continuarono ad esserlo non di raro anche durante la fase afenolica successiva; come Penicilli che erano tossici durante una prima fase afenolica, diventarono poi innocui durante una fase fenolica successiva. Non sempre però ho notato questa mancanza di rapporti tra potere tossico e potere di reagire al cloruro di ferro. In molti casi, in particolar modo in quelli che rimasero fenolici per tutto il periodo di osservazione, debbo anzi dire di aver constatato un vero rapporto diretto tra il grado della reazione fenolica e quello del potere tossico. Posseggo infatti campioni di Penicilli in cui questo rapporto diretto si mantenne costante nelle varie stagioni da oltre due anni; di modo che ad una fase di tossicità massima corrispose sempre una reazione intensa e tipica, e viceversa a una fase di tossicità minima corrispose sempre una reazione assai debole e spesso appena percettibile.

Questi casi in cui la reazione al cloruro di ferro si potrebbe considerare come un vero indice del grado di tossicità, sono però troppo rari per trarne delle deduzioni generali; mentre ad essi si possono contrapporre degli altri casi i quali vengono a dimostrare che il suddetto rapporto diretto quando esiste non può esser considerato assai probabilmente che come una semplice coincidenza di due

fenomeni biologici diversi. Esistono infatti dei Penicilli nella mia collezione che si sono mantenuti dotati della proprietà di reagire in modo tipico al cloruro di ferro in tutto il periodo di osservazione, con deboli varianti relative alle diverse stagioni, ma che invece si mantennero innocui nella massima parte di questo periodo. Conservo poi, infine, altri Penicilli il di cui grado di tossicità si è presentato non di raro in rapporto inverso coll' intensità della reazione classica.

È logico concludere dopo tutto questo che i principii fenolici che reagiscono al cloruro di ferro, non hanno e non possono avere alcun valore nè come indice di tossicità dei Penicilli e tanto meno ancora come indice esplicativo del meccanismo della tossicità, come pretenderebbe il Gosio; giacchè manca ogni rapporto costante tra il potere tossico e la suddetta reazione. Non ci resta quindi che di ammettere col Di Pietro la presenza di due principii diversi e indipendenti fra di loro nel medesimo parassita; nello stesso modo, p. es., che nell' *Amanita bulbosa* può contemporaneamente esistere tanto un principio alcoloide, quanto una toxi-albumina, come ha dimostrato *Kobert* (Rev. Mycologique, N. 89; 1901).

Il Di Pietro del resto, come già dissi più sopra, già sarebbe arrivato direttamente a questa dimostrazione per la varietà tossica di *Penicillum Glaucum* da lui descritta, avendo potuto egli isolare separatamente il principio tossico dall' acido aromatico che reagisce al cloruro di ferro.

Le esperienze del Di Pietro furono poi ripetute nel nostro Laboratorio ed ebbero la piena riconferma, come vedremo meglio a suo tempo riferendo i risultati da noi ottenuti, anche con me-

todi diversi, sulla separazione dei tossici pellagrogeni dai principii fenolici.

Voglio accennare invece qui ancora ai vari rapporti da me osservati tra i principii fenolici che reagiscono al cloruro ferrico e la diversa natura dei principii tossici pellagrogeni.

Già nell' ultima mia memoria sopra ricordata « *sul ciclo biologico dei Penicilli ecc.* » facevo notare come anche questi ifomiceti non possono più esser divisi dal punto di vista della natura fisiologica dei tossici da loro elaborati, cioè, non possono oggi più esser divisi in Penicilli a tossici *eccitanti e convulsivanti* e in Penicilli a tossici *deprimenti e paralizzanti*, come sembrava possibile dalle nostre prime osservazioni in proposito; giacchè è risultato in seguito evidente che la diversa natura dei tossici non è legata a varietà speciali di questi parassiti, ma è bensì legata a fasi biologiche dei medesimi. Tutti i Penicilli da me studiati infatti, come l'*Aspergillus Varians* da me descritto, durante il periodo di osservazione si presentarono capaci di elaborare, indipendentemente dal mezzo nutritivo, ora dei tossici eccitanti e convulsivanti, ora dei tossici deprimenti e paralizzanti in modo alternativo, seguendo probabilmente una legge biologica a noi sconosciuta.

Dovendo perciò ora parlare di rapporti tra la classica reazione fenolica e la natura dei principii tossici pellagrogeni, dovremo noi sempre tener presente questo fatto, vale a dire, ripeto, che la diversa natura dei tossici non riguarda specie o varietà di parassiti diversi, ma riguarda solamente alcune fasi biologiche dei medesimi.

Tralascio anche qui di descrivere tutti i particolari dei rapporti suddetti perchè andrei troppo

per le lunghe; molto più che mi propongo di ritornare sull'argomento e con un maggior numero di osservazioni, quando esporrò i risultati definitivi dei miei studi sul ciclo biologico di questa specie di ifomiceti. Mi limito perciò ancora ad accennare per brevi capi ai fatti più salienti, bastando essi per darci un concetto esatto di questa questione tanto complessa.

Stando sempre alle nostre osservazioni, notiamo anzitutto che la reazione fenolica in discorso coincide nei Penicilli con una sorprendente prevalenza colle fasi in cui il parassita elabora dei tossici a carattere *eccitante* e *convulsivante*; di modo che in alcuni casi il rapporto tra questi due fenomeni è così spiccato e diretto che tale reazione si potrebbe considerare in realtà quale un esponente del grado di tossicità. La reazione è quivi di solito infatti più intensa nei periodi di attività tossica massima e lieve o quasi nulla nei periodi di attività tossica minima.

Questo rapporto per quanto frequente, è però ben lungi dall'essere costante e dal costituire una legge. Al contrario non di raro abbiamo osservato una reazione fenolica intensa anche in casi in cui il parassita era dotato di potere tossico eccitante assai lieve o nullo; come abbiamo anche osservato non di raro il fatto inverso, cioè, una reazione fenolica debole o nulla, in casi in cui il potere tossico suddetto appariva coi caratteri più gravi e più tipici che mai si potessero immaginare.

I rapporti quindi tra i principii tossici di carattere eccitante e convulsivante e la reazione fenolica, per quanto frequenti, sono tutt'altro che costanti e sono ben lungi perciò dal permetterci qualsiasi deduzione d' indole generale anche sul

valore che essi possono avere nella costituzione intima degli stessi tossici pellagrogeni.

Ancor meno costanti sono apparsi i rapporti della suddetta reazione colle fasi di attività tossica a carattere deprimente e paralizzante. Di solito quando gli estratti penicillari agivano sugli animali con fenomeni deprimenti e paralizzanti mancava in essi ogni traccia della tipica reazione al cloruro di ferro. Anche questo fatto è però ben lungi dal costituire la regola, perchè non di raro ho potuto osservare la reazione classica anche in Penicilli a tossici deprimenti e paralizzanti. Un rapporto costante tra il carattere fisiologico del tossico e la reazione fenolica non esiste quindi in alcun modo.

Non è mia intenzione di indagare qui le cause dei fenomeni sopra esposti, e mi limito perciò alla constatazione dei fatti contro i quali è superflua per ora ogni critica ed ogni obbiezione.

Riassumendo perciò quanto fu osservato da me e dal mio collaboratore dott. Besta sulla reazione fenolica classica nelle varie specie di ifomiceti patogeni, dirò :

1. Nessuno degli Aspergilli da noi studiati (*Aspergillus Fumigatus, A. Niger, A. Ochraceus, A. Flavescens, A. Varians)* sperimentati nelle loro varie fasi biologiche tossiche e atossiche, si presentarono capaci di reagire al cloruro ferrico.

2. Di 61 campioni di Penicilli verdi, tutti patogeni, fin qui studiati e sperimentati metodicamente nelle varie stagioni per oltre due anni di fila, 37 reagirono ora in un'epoca ora nell'altra, ma sempre in modo tipico, al cloruro ferrico ; mentre gli altri 24 campioni non diedero mai luogo ad alcuna traccia di questa reazione, pur presentando pro-

prietà tossiche eccitanti e deprimenti eguali a quelle dei primi.

3. La classica reazione fenolica fu riscontrata con notevole preferenza in rapporto col potere tossico *eccitante* e *convulsivante* dei Penicilli verdi; più di raro assai fu osservata in rapporto col potere tossico *deprimente* e *parilizzante* dei medesimi parassiti.

4. La reazione fenolica fu spesso trovata in rapporto diretto col grado di tossicità, specialmente nei Penicilli con tossici di natura *eccitante* e *convulsivante*; più di raro invece fu riscontrata in rapporto inverso col grado di tossicità dei medesimi parassiti.

5. La tipica reazione al cloruro di ferro fu osservata non di raro nei Penicilli verdi anche durante delle fasi più o meno lunghe (di un anno e più) in cui questi si erano mantenuti del tutto innocui, incapaci, cioè, di elaborare dei tossici di qualsiasi natura.

Reggio Emilia, 4 maggio 1906.
